

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN  
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad  
Intellectual  
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional  
16 de Junio de 2005 (16.06.2005)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional  
**WO 2005/053505 A3**

(51) Clasificación Internacional de Patentes<sup>7</sup>: C12N 15/30,  
C07K 14/44, G01N 33/569

(21) Número de la solicitud internacional:  
PCT/ES2004/000529

(22) Fecha de presentación internacional:  
26 de Noviembre de 2004 (26.11.2004)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:  
P200302869  
4 de Diciembre de 2003 (04.12.2003) ES

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo  
US): **UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
[ES/ES]; Rectorado Avenida de Seneca, 2, E-28040  
Madrid (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **ORTEGA  
MORA, Luis, Miguel** [ES/ES]; Dpto. Sanidad Animal,  
Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de  
Madrid, E-28040 Madrid (ES). **FERNÁNDEZ GARCÍA,  
Aurora** [ES/ES]; Dpto. Sanidad Animal, Facultad Veteri-  
naria, E-28040 Madrid (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,  
para toda clase de protección nacional admisible): AE,  
AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY,  
BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ,  
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,  
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,  
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI,  
NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,  
SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,  
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,  
para toda clase de protección regional admisible): ARIPO  
(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ,  
UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD,  
RU, TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LU, MC, NL, PL,  
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,  
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Publicada:**

- con informe de búsqueda internacional
- antes de la expiración del plazo para modificar las reivin-  
dicaciones y para ser republicada si se reciben modifica-  
ciones

(88) Fecha de publicación del informe de búsqueda  
internacional: 14 de Julio de 2005

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección  
"Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al  
principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(54) Title: USE OF GENE NCSAG4 FOR THE DIAGNOSIS AND PREVENTION OF NEOSPOROSIS AND AS A MARKER  
FOR ANALYSIS OF THE PATHOGENESIS

(54) Título: USO DEL GEN NCSAG4 PARA EL DIAGNÓSTICO Y PREVENCIÓN DE LA NEOSPOROSIS, Y COMO MAR-  
CADOR PARA EL ANÁLISIS DE LA PATOGENIA

(57) Abstract: The invention relates to gene NcSAG4, the RNA messenger of said gene, the oligonucleotides designed as a function  
of the nucleotide sequence thereof or any of the fragments of same, and to protein NcSAG4 coded thereby, or any of the recombinant  
forms of same, expression vectors, and host cells containing same, for the purpose of diagnosis and vaccination for the prevention  
of neosporosis. The invention also relates to the use thereof as a specific marker of the *N. caninum* bradyzoite stage, for the analysis  
of the pathogenesis or the effectiveness of vaccines against the establishment of a chronic infection in the intermediate host.

(57) Resumen: La presente invención se refiere al gen NsSAG4, su RNA mensajero, los oligocluneótidos diseñados en función de  
su secuencia nucleotídica, o cualquiera de sus fragmentos, así como la proteína NcSAG4 que codifica, o cualquiera de sus formas  
recombinantes, los vectores de expresión, así como las células hospedadoras que los contengan, para el diagnóstico y la vacunación  
para la prevención de la neosporosis, así como su uso como marcador específico de la fase de bradizoíto de *N. caninum*, para el  
análisis de la patogenia o de la eficacia de las vacunas frente al establecimiento de la infección crónica en el hospedador intermediario.



WO 2005/053505 A3

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/ ES 2004/000529

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <b>IPC<sup>7</sup> C12N 15/30, C07K 14/44, G01N 33/569</b> According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <b>IPC<sup>7</sup> C12N, C07K, G01N</b> Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) <b>CIBEPAT, EPODOC, BIOSIS, MEDLINE, EBI</b>				
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
A	US2003180785 A (KRISHNAN et al.) 25.09.2003. <b>the whole document</b>	1-18		
A	SCHARES, G. et al., "Neospora caninum: identification of 19-, 38-, and 40-kDa surface antigens and a 33-kDa dense granule antigen using monoclonal antibodies.", EXP. PARASITOL., 1999, Vol. 92, No. 2, <b>pages 109-119, the whole document</b>	1-18		
A	FUCHS, N. et al., "Differential expression of cell surface- and dense granule-associated Neospora caninum proteins in tachyzoites and bradyzoites.", J. PARASITOL., 1998, Vol. 84, No. 4, <b>pages 753-758. the whole document</b>	1-18		
A	ÖDBERG-FERRAGUT, C. et al., "Molecular cloning of the Toxoplasma gondii SAG4 gene encoding a 18kDa bradyzoite-specific surface protein.", MOL. BIOCHEM. PARASITOL., 1996, Vol. 82, No. 2, <b>pages 237-244. the whole document</b>	1-18		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.				
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none;">           * Special categories of cited documents:            "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance            "E" earlier document but published on or after the international filing date            "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)            "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means            "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed         </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none;">           "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention            "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone            "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art            "&amp;" document member of the same patent family         </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search <b>04 May 2005 (04.05.2005)</b>		Date of mailing of the international search report <b>11 May 2005 (11.05.2005)</b>		
Name and mailing address of the ISA/ <b>S.P.T.O.</b> Facsimile No.		Authorized officer Telephone No.		

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2004/000529

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	3OHNE, W. et al., "Bradyzoite-specific genes.", CURR. TOP. MICROBIOL. IMMUNOL., 1996, Vol. 219, <b>pages 81-91.</b> <b>the whole document</b>	1-18

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/ ES 2004/000529

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US2003180785-A1	25-09-2003	CA2264260-A1	26-09-1999
		AU2243799-A	07-10-1999
		CN1232087-A	20-10-1999
		EP0953641-A2A3	03-11-1999
		JP11332583-A	07-12-1999
		BR9902019-A	02-05-2000
		NZ334839-A	25-08-2000
		ZA9902309-A	10-10-2000
		EP1221487-A2A3	10-07-2002
		EP1221486-A2A3	10-07-2002
		EP1221485-A2A3	10-07-2002
		AU759103-B2	03-04-2003
		US6600027-B1	29-07-2003

# INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°  
PCT/ ES 2004/000529

## A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

CIP<sup>7</sup> C12N 15/30, C07K 14/44, G01N 33/569

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.

## B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

CIP<sup>7</sup> C12N, C07K, G01N

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

CIBEPAT, EPODOC, BIOSIS, MEDLINE, EBI

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	US2003180785 A (KRISHNAN et al.) 25.09.2003. Ver todo el documento.	1-18
A	SCHARES, G. et al., "Neospora caninum: identification of 19-, 38-, and 40-kDa surface antigens and a 33-kDa dense granule antigen using monoclonal antibodies.", EXP. PARASITOL., 1999, Vol. 92, No. 2, páginas 109-119. Ver todo el documento.	1-18
A	FUCHS, N. et al., "Differential expression of cell surface- and dense granule-associated Neospora caninum proteins in tachyzoites and bradyzoites.", J. PARASITOL., 1998, Vol. 84, No. 4, páginas 753-758. Ver todo el documento.	1-18
A	ÖDBERG-FERRAGUT, C. et al., "Molecular cloning of the Toxoplasma gondii SAG4 gene encoding a 18kDa bradyzoite-specific surface protein.", MOL. BIOCHEM. PARASITOL., 1996, Vol. 82, No. 2, páginas 237-244. Ver todo el documento.	1-18

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

\* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.

"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.

"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

"T"

documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.

"X"

documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.

"Y"

documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.

"&"

documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.

04 mayo 2005 (04.05.2005)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

11 MAY 2005 11.05.2005

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M.

C/Panamá 1, 28071 Madrid, España.

N° de fax 34 91 3495304

Funcionario autorizado

J.L. Vizán Arroyo

N° de teléfono + 34 91 349 55 24

# INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

icitud internacional nº

PCT/ ES 2004/000529

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	BOHNE, W. et al., "Bradyzoite-specific genes.", CURR. TOP. MICROBIOL. IMMUNOL., 1996, Vol. 219, páginas 81-91. Ver todo el documento.	1-18

# INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ ES 2004/000529

## Recuadro II Observaciones cuando se estime que algunas reivindicaciones no pueden ser objeto de búsqueda (Continuación del punto 2 de la primera hoja)

De conformidad con el artículo 17(2)(a), algunas reivindicaciones no han podido ser objeto de búsqueda por los siguientes motivos:

1. ☐ Las reivindicaciones n°s:  
se refieren a un objeto con respecto al cual esta Administración no está obligada a proceder a la búsqueda, a saber:
2. ☒ Las reivindicaciones n°s: 4 (en parte), 9 (en parte)  
se refieren a elementos de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos, de tal modo que no pueda efectuarse una búsqueda provechosa, concretamente:

VER HOJA ADICIONAL PCT/ISA/210

3. ☐ Las reivindicaciones n°s:  
son reivindicaciones dependientes y no están redactadas de conformidad con los párrafos segundo y tercero de la regla 6.4(a).

## Recuadro III Observaciones cuando falta unidad de invención (Continuación del punto 3 de la primera hoja)

La Administración encargada de la Búsqueda Internacional ha detectado varias invenciones en la presente solicitud internacional, a saber:

1. ☐ Dado que todas las tasas adicionales han sido satisfechas por el solicitante dentro del plazo, el presente informe de búsqueda internacional comprende todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda.
2. ☐ Dado que todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda pueden serlo sin un esfuerzo particular que justifique una tasa adicional, esta Administración no ha invitado al pago de ninguna tasa de esta naturaleza
3. ☐ Dado que tan sólo una parte de las tasas adicionales solicitadas ha sido satisfecha dentro del plazo por el solicitante, el presente informe de búsqueda internacional comprende solamente aquellas reivindicaciones respecto de las cuales han sido satisfechas las tasas, concretamente las reivindicaciones n°s:
4. ☐ Ninguna de las tasas adicionales solicitadas ha sido satisfecha por el solicitante dentro de plazo. En consecuencia, el presente informe de búsqueda internacional se limita a la invención mencionada en primer término en las reivindicaciones, cubierta por las reivindicaciones n°s:

Indicación en cuanto a la protesta

- ☐ Las tasas adicionales han sido acompañadas de una protesta por parte del solicitante.
- ☐ El pago de las tasas adicionales no ha sido acompañado de ninguna protesta.

La administración de Búsqueda Internacional ha detectado los siguiente grupos de invenciones:

1. Las reivindicaciones n°s: 4 (en parte), 9 (en parte).
  - 1.1. La reivindicación 4 se refiere a un número extremadamente grande de posibles moléculas polinucleotídica. De hecho, la reivindicación contiene tantas posibles secuencias nucleotídicas que se produce una falta de claridad (y concisión), entendida ésta dentro del significado del artículo 6 PCT, hasta tal punto que resulta imposible realizar una búsqueda provechosa de la reivindicación. En consecuencia, la búsqueda se ha limitado al conjunto de secuencias constituido por el gen *NcSAG4* de *Neospora caninum* (SEQ ID No. 9), por secuencias homólogas a *NcSAG4* (SEQ ID No. 9) que codifican el antígeno *NcSAG4* y por fragmentos de *NcSAG4* (SEQ ID No. 9) que codifican polipéptidos que conservan las características antigénicas de *NcSAG4*.
  - 1.2. La reivindicación 9 (en parte) se refiere en sus apartados b), c) y d) a un número extremadamente grande de posibles moléculas polipeptídicas. De hecho, la reivindicación contiene tantas posibles polipéptidos que se produce una falta de claridad (y concisión), entendida ésta dentro del significado del artículo 6 PCT, hasta tal punto que resulta imposible realizar una búsqueda provechosa de la reivindicación. En consecuencia, la búsqueda se ha limitado al conjunto de secuencias polipeptídicas constituido por la proteína antigénica *NcSAG4* de *Neospora caninum* (SEQ ID No. 10), por secuencias modificadas química o enzimáticamente derivadas de homólogas a la proteína *NcSAG4* (SEQ ID No. 10) que conservan sus características antigénicas, por polipéptidos derivados de *NcSAG4* (SEQ ID No. 10) que conservan sus características antigénicas y por proteínas recombinantes que incluyen *NcSAG4* (SEQ ID No. 10) o polipéptidos derivados de *NcSAG4* (SEQ ID No. 10) que conservan sus características antigénicas.
  - 1.3. El solicitante debe tener en cuenta el hecho de que las reivindicaciones, o partes de reivindicaciones, relacionadas con invenciones con respecto a las cuales no se ha establecido informe internacional de búsqueda no tienen por que ser objeto de examen internacional preliminar (Regla 66.1(e) PCT). Se informa al solicitante de que la OEPM cuando actúa como Autoridad Internacional de Examen Preliminar normalmente no realiza el examen preliminar de aquellas materias que no han sido buscadas. Es el caso indistintamente de si las reivindicaciones son modificadas tras la recepción del informe de búsqueda o durante cualquier procedimiento del Capítulo II.

**Información relativa a miembro de familias de patentes**

PCT/ ES 2004/000529

Formulario PCT/ISA/210 (anexo-familias de patentes) (Enero 2004)